

УДК 632.4

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРАТЕГИЙ РАЗМНОЖЕНИЯ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПОЛЕВЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

А.Н. СМИРНОВ, С.А. КУЗНЕЦОВ

(Кафедра фитопатологии)

Статья посвящена анализу основных стадий жизненного цикла (ооспор и зооспорангиев) и жизнеспособности оомицета *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bygu. Рассмотрены понятия долгосрочной и краткосрочной жизнеспособности *P. infestans*. Отмечается, что долгосрочная жизнеспособность в основном определяется образованием ооспор, а краткосрочная — уровнем агрессивности. Анализируя материалы исследований по фитофторозу, авторы пришли к выводу, что лабораторные методы недостаточны для определения агрессивности. Необходимо определять агрессивность, а также встречаемость ооспор для полевых популяций *P. infestans* в природных условиях. В основе предлагаемого метода лежит необходимость одновременного определения встречаемости ооспор и зооспорангиев в обесцвеченных тканях картофеля и томата, пораженных фитофторозом. Для оценки частоты встречаемости ооспор и зооспорангиев в полевых популяциях *P. infestans* разработаны индексы встречаемости ооспор (ИО) и зооспорангиев (ИЗ). Для определения индекса агрессивности полевой популяции (ИА) используются индекс ИЗ, а также показатели полевых учетов — распространенность и интенсивность (индекс развития) болезни. На основе распределения ИЗ и ИО определяются стратегии и подстратегии размножения, на основе распределения ИА и ИО — стратегии и подстратегии жизнеспособности полевых популяций *P. infestans*.

Применение метода позволит лучше понимать биологические особенности патогена, а также оценивать эффективность защитных мероприятий.

К настоящему времени для изучения опаснейшего паразита картофеля и томата оомицета *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bygu проводит лабораторные исследования и полевые наблюдения.

В лабораторные исследования вовлекаются чистые культуры *P. infestans*, изолированные из природных образцов растений-хозяев, пораженных фитофторозом. Для таких штаммов определяют важные характеристики — типы спаривания, устойчивость к основным фунгицидам, вирулентность к сортам картофеля и томата (расы), жизнеспособность (агрессивность), изо-

ферментные и ДНК-маркеры [3, 4, 10, 11, 14]. Активно развиваются комплексные популяционно-генетические исследования. Они позволяют выявлять эволюционные изменения, проходящие в популяциях патогена.

В последние годы очень большое значение приобретают исследования жизнеспособности *P. infestans*. Это в значительной степени связано с селекцией сортов картофеля на полевую устойчивость к фитофторозу.

Понятие жизнеспособность (пригодность или fitness) для *P. infestans* имеет двойную природу [1]

(рис. 1). Первая составляющая жизнеспособности — способность к долгосрочному выживанию, перенесению неблагоприятных условий. В значительной степени она определяется способностью патогена к образованию ооспор (в основном гибридных, способных сохраняться несколько лет [6]. Некоторое значение (видимо, значительно меньшее) могут иметь стойкость мицелия и хламидоспор [2].

Долгое время регулярное образование гибридных ооспор наблюдали только в Мексике, в высокогорной долине Толука [8, 9, 11]. Однако за последние 15-20 лет ооспоры обна-

ружили в ряде стран Европы, в т. ч. и в России [3]. Были изучены некоторые закономерности образования ооспор. Так, было показано, что ооспоры могут образовываться в тканях растений-хозяев в течение большей части вегетационного сезона, а не только при его завершении [3]. Часто и в большом количестве ооспоры образуются в плодах томата [3, 13]. В природных условиях интенсивность образования ооспор может усиливаться или тормозиться различными причинами, в т. ч. и экологическими факторами [5]. Поэтому встречаемость ооспор — важный показатель, характеризу-

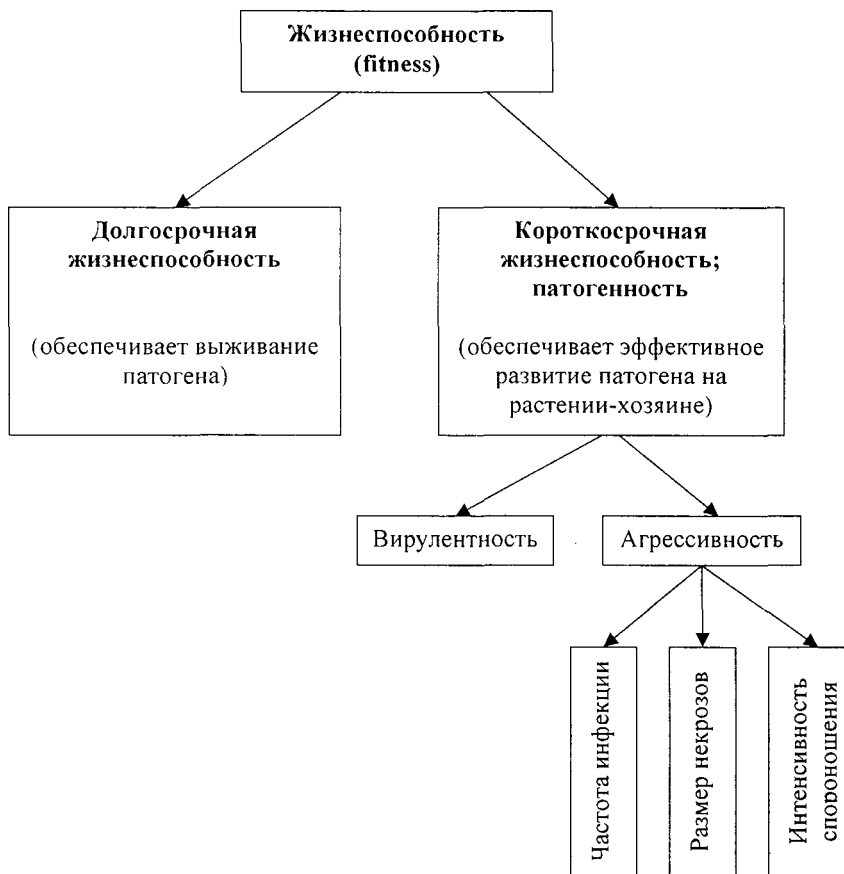


Рис. 1. Типы жизнеспособности патогенов растений на примере *P. infestans*

ющий состояние полевой популяции *P. infestans*. Гибридные ооспоры (в меньшей степени, ооспоры от самооплодотворения) могут способствовать повышению генетического разнообразия возбудителя фитофтороза [3].

Вторая составляющая жизнеспособности — это *патогенность*. Благодаря патогенности возбудитель за короткий период в течение вегетационного сезона поражает растение-хозяина. Основные компоненты патогенности — *вирулентность* и *агрессивность*. Обобщая исследования по вирулентности (расовому составу) *P. infestans*, можно отметить, что повсеместно в природных популяциях возбудителя присутствуют все известные факторы (гены) вирулентности. Это обусловлено довольно частым возделыванием сортов с генами устойчивости R1-R4 во 2-й половине XX в., а также высоким потенциалом изменчивости патогена [7].

Агрессивность *P. infestans* проявляется в том, насколько быстро патоген внедряется в ткани растения-хозяина (*инкубационный* и *латентный периоды*), какой процент растений-хозяев поражает (*частота инфекции*), насколько интенсивно разрастается в тканях растений-хозяев (*размер некрозов*), с какой интенсивностью спорулирует (*интенсивность спороношения*) [8, 10, 14]. Именно агрессивность паразита определяет, насколько сильно поражаются восприимчивые сорта. Агрессивности противостоит полевая устойчивость растений-хозяев. При проявлении агрессивности на определенных сортах в последние годы выявлена некоторая специфичность [4]. Агрессивность рассматривают как определяющий компонент краткосрочной жизнеспособности.

В научно-практической литературе известно довольно много лабораторных методов определения жизнеспособности. Все они основаны на работе с изолятами возбудителя, выделенными в чистую культуру. Для каждого изолята определяют компоненты краткосрочной жизнеспособности и подсчитывают общие индексы жизнеспособности и агрессивности [1, 8, 10, 12, 14].

**Полевые наблюдения** проводятся на посадках картофеля. Обычно определяют процент пораженных растений и интенсивность поражения (пораженная поверхность) растения фитофторозом. Селекционеры используют полученную информацию для оценки устойчивости (иммунности) того или иного сорта картофеля. Результаты учитывают в баллах или процентах. Шкалы и стандарты оценки, используемые фитопатологами и селекционерами, довольно сильно отличаются друг от друга.

Следует отметить, что в большинстве случаев лабораторные исследования и полевые наблюдения проводят обособленно друг от друга. Первые реализуются в научных учреждениях, вторые — в производственных условиях. Взаимодействие, конечно, есть. К примеру, в странах Европейского Союза разработаны и уже функционируют в Интернете мощные информационные системы. Они оперативно оповещают производителей картофеля о текущей опасности фитофтороза в данном регионе и дают рекомендации по защитным мероприятиям. Российский ВНИИ фитопатологии публикует рекомендации, направленные на оптимизацию проведения учетов и защитных мероприятий.

Использование результатов полевых учетов и сравнительных характеристик изолятов позволяет

определить потенциальные возможности определенных географических популяций. Посредством специальных методов (например, метод математических моделей AUDPC) можно прогнозировать возможные потери урожая картофеля в тех или иных регионах [4].

Однако, как правило, в России при решении конкретных производственных проблем лабораторные методы и те возможности, которые они дают, не используются. Это связано с экономическими причинами, а также с отсутствием удобной методической базы, которая могла бы оперативно использоваться при решении задач, связанных с защитой посадок картофеля от фитофтороза.

В этой связи применение лабораторных методов (популяционных исследований и оценки жизнеспособности возбудителя) имеет существенные ограничения.

Первое ограничение связано с тем, что производство картофеля и томата частично перешло в частный сектор, который довольно плохо поддается контролю. Станции защиты растений разного уровня пока имеют с ним недостаточный контакт. Недостаточна и научно-информационная база, позволяющая специалистам СТАЗР оказывать хозяйствам и населению квалифицированную консультационную помощь. А между тем именно СТАЗРы могли бы наладить непосредственную работу, имеющую научно-методическое обоснование, для своих районов и областей.

Второе ограничение связано с тем, что проводить профессиональную работу с чистыми культурами *P. infestans* может лишь ограниченное количество лабораторий. Эти лаборатории не могут обеспечить весь необходимый объем исследо-

ваний для всех зон РФ, связанных с выращиванием картофеля и томата.

Третье ограничение определяется спецификой изолятов *P. infestans*. В чистой культуре они могут несколько менять свои свойства. Поэтому результаты лабораторных тестов порой довольно трудно распространять на полевые условия. Последние при лабораторных тестах не учитываются. В результате связка между результатами лабораторных тестов и полевых учетов недостаточна или отсутствует.

Полевые учеты проводятся повсеместно и часто. Однако во многих случаях они дают лишь формальную оценку состояния фитофтороза. Преимущество лабораторных методов при полевых наблюдениях не используются. Поэтому получаемая информация о потенциальных возможностях возбудителя недостаточна для планирования защитных мероприятий.

Следует отметить, что объектом и научного, и практического интереса должна быть полевая популяция *P. infestans*. С биологической точки зрения, это единица микроэволюции. Именно против полевых популяций возбудителя (состоящих из совокупности его штаммов на определенном поле или делянке с растениями-хозяевами) направлено применение мер защиты против фитофтороза. Поэтому определение жизнеспособности полевой популяции поможет определить многие свойства *P. infestans* и меры защиты против нее.

Для изучения полевых популяций *P. infestans* необходимо совмещать методы лабораторных исследований с проведением полевых учетов. Только такой подход позволит получить объективную картину. Без определения стратегий размножения, интенсивности первич-

ной и вторичной инфекции получить реальное представление о возбудителе фитофтороза *in vivo* невозможно. Анализ полевых популяций должен проводиться на местах агрономами по защите растений и сотрудниками СТАЗРов.

В настоящей статье мы предлагаем новый метод оценки стратегий размножения и жизнеспособности полевых популяций *P. infestans*. Метод основан на результатах 8 лет исследований фитофтороза. Создавая данный метод, мы пытались совместить результаты лабораторных исследований и полевых наблюдений. Цель метода – определение жизнеспособности полевой популяции *P. infestans* для принятия грамотного, научно обоснованного решения по применению защитных мероприятий против фитофтороза.

В основе метода лежит единовременное определение встречаемости ооспор и зооспорангиев в тканях картофеля и томата, пораженных фитофторозом. Для обнаружения ооспор внутри тканей необходимо обесцвечивание образцов, поэтому поиск зооспорангиев необходимо вести в уже обесцвеченных образцах. В этом заключается новизна предлагаемого метода. Рассмотрим последовательность процедур и приведем их методическое обоснование.

#### Подготовительный этап

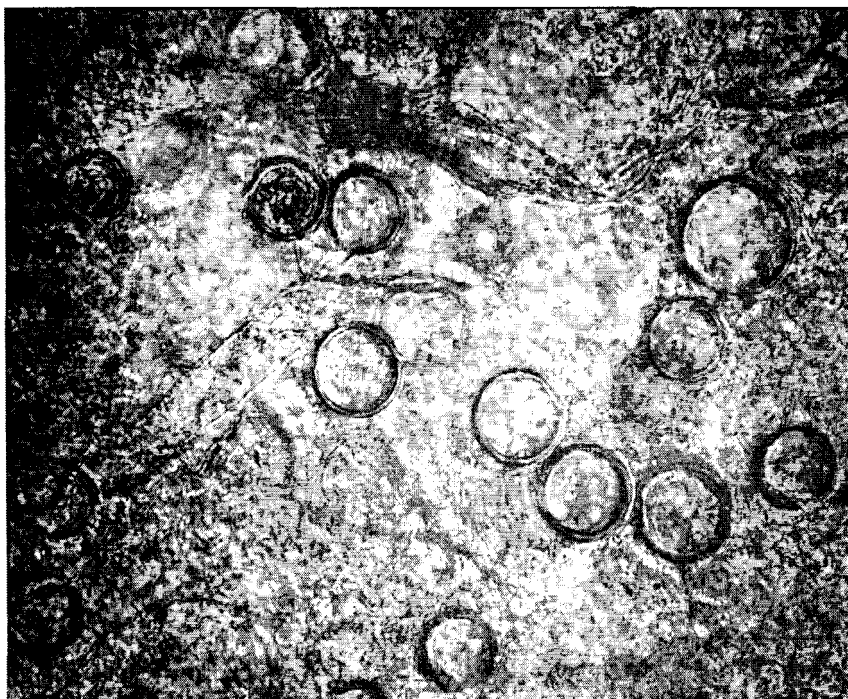
*Подготовка и обесцвечивание материала.* Для обесцвечивания сегменты листьев картофеля или томата, пораженных фитофторозом, закладывают на сутки во влажные камеры. После их помещают в лабораторные стаканчики и заливают 96%-м раствором этанола таким образом, чтобы сегмент листа был полностью погружен. Далее стаканчики с образцами по-

мещают в водяную баню, кипятят 3-5 мин и оставляют на 30 мин. После этого листья теряют хлорофилл, а излишек спирта выкипает и испаряется. Остаток спирта аккуратно сливают, а в стаканчик заливают 10%-й водный раствор хлорсодержащего средства «Белизна», чтобы образец был погружен в него (объем раствора примерно в 3 раза превышает объем образца), затем выдерживают 1 ч. После этого образцы полностью или почти полностью обесцвечиваются. Такой способ обесцвечивания широко распространен в лабораториях Западной Европы, Канады и США для поиска ооспор. В предшествующих исследованиях он применялся и в нашей лаборатории [3].

Далее ооспоры могут быть выявлены внутри тканей образца (рис. 2). Зооспорангии в кипящем спирте и «Белизне» не разрушаются. Из них обычно вытекает содержимое, но стенки подавляющего большинства зооспорангиев остаются и пустые зооспорангии также могут быть выявлены (рис. 3).

Плоды томата, пораженные фитофторозом, для обесцвечивания помещают во влажные камеры на 1-2 недели. Спирт и хлорсодержащее средство обычно не применяют.

**Оценка встречаемости зооспорангиев и ооспор в отдельных образцах.** Обесцвеченные образцы микроскопируют (сегменты листьев – в растворе хлорсодержащего средства) для уточнения частоты встречаемости ооспор и зооспорангиев. При малом увеличении (около  $\times 150$ ) проверяют 50 случайных полей зрения, каждое – примерно 1 мм<sup>2</sup>. При поиске ооспор просматривают 50 полей зрения в тканях образца. При поиске зооспорангиев просматривают 25 полей зрения в



25µm

Рис. 2. Многочисленные ооспоры *P. infestans* в плоде томата



25µm

Рис. 3. Пустые зооспорангии и гифы *P. infestans* в листе картофеля после инкубации в кипящем этаноле и хлорсодержащем средстве «Белизна»

тканях образца и 25 полей зрения — в свободном растворе. Если число обнаруженных ооспор или зооспорангиев не превышает 25, находится в интервале от 26 до 250 или превышает 250, то их встречаемость оценивают соответственно как редкую, умеренную или частую.

**Определение индексов встречаемости зооспорангиев и ооспор в полевой популяции.** Чтобы оценить встречаемость ооспор и зооспорангиев в полевой популяции *P. infestans* подсчитывают, сколько образцов имеют редкую, умеренную и частую встречаемость ооспор и зооспорангиев. Далее подсчитывают индексы встречаемости зооспорангиев (ИЗ) и ооспор (ИО) в полевой популяции по формулам:

$$\text{ИЗ} = 0,05 \text{ РС} + 0,5 \text{ УС} + \text{ЧС},$$

$$\text{ИО} = 0,05 \text{ РО} + 0,5 \text{ УО} + \text{ЧО},$$

где РС — частота встречаемости образцов с редкими зооспорангиями, %; УС — частота встречаемости образцов с умеренными зооспорангиями, %; ЧС — частота встречаемости образцов с частыми зооспорангиями, %; РО — частота встречаемости образцов с редкими ооспорами, %; УО — частота встречаемости образцов с умеренными ооспорами, %; ЧО — частота встречаемости образцов с частыми ооспорами, %.

#### **Обоснование индексов ИЗ и ИО.**

Использование шкалы встречаемости зооспорангиев, ооспор и индексов позволяет отказаться от применения многочисленных статистических данных (процент образцов с ооспорами), не учитывающих встречаемость зооспорангиев и ооспор в образце, что может привести к неточностям и даже к серьезным ошибкам. Напротив, индексы ИЗ и ИО учитывают встречаемость зооспорангиев и ооспор в образце и это в итоге позволяет получить более конкретную характеристику полевой популяции *P. infestans*.

Авторы статьи исследовали полевые популяции *P. infestans* на картофеле и томате с 1996 г. во многих регионах России. Всего было проанализировано около 100 популяций, включающих не менее 3000 образцов листьев, клубней и плодов. Усредненная оценка этих многолетних данных показала, что при умеренной встречаемости зооспорангии или ооспоры обнаруживаются примерно в 2 раза реже, чем при частой; при редкой встречаемости — примерно в 20 раз реже, чем при частой. Это иллюстрирует распределение значений встречаемости. Например, в 50 полях зрения 15 ооспор — при редкой встречае-

мости, 150 ооспор — при умеренной встречаемости и 300 ооспор — при частой встречаемости.

Слишком часто в природных образцах ооспоры встречаться не могут, поэтому разница между образцами по встречаемости ооспор больше, чем в 20 раз, почти никогда не выявляется. Слишком редкая встречаемость ооспор может свести показатель РО к минимуму, поэтому на конечное значение индекса ИО она мало повлияет. Эти рассуждения объясняют, почему в формуле по определению ИО пересчетный коэффициент при УО равен 0,5, а при РО — 0,05. Для индекса ИЗ все рассуждения аналогичны вышеприведенным.

В некоторых случаях значения встречаемости зооспорангиев или ооспор могут быть близкими к граничным значениям, разделяющим интервалы встречаемости. В таких случаях количество образцов в исследуемой выборке (характеризующей полевую популяцию) должно быть достаточно велико. Это позволит уменьшить риск случайных отклонений в сторону того или иного диапазона, способных исказить результат при небольших размерах выборок.

Наш метод представляет собой сочетание как хорошо известных проверенных, так и новых подходов. Благодаря использованию индексов ИЗ и ИО возможно оценить потенциал встречаемости зооспорангиев и ооспор в полевой популяции. На очень точную оценку наш метод не претендует из-за: использования только качественной шкалы оценки встречаемости ооспор и зооспорангиев в образцах; значительной протяженности интервалов встречаемости; пересчетных коэффициентов, лишь примерно отражающих разницу между диапазонами.

Однако при качественной оценке встречаемости зооспорангиев и ооспор в образце снижается вероятность субъективных ошибок при попытке провести более точную оценку встречаемости ооспор или зооспорангиев в образце, которые могут иметь принципиальное значение. Применяя наш подход, можно довольно быстро и удобно (а это бывает важно при решении практических вопросов на практике) оценить уровень встречаемости зооспорангиев или ооспор и сделать тем самым первый шаг к оценке эпидемиологической ситуации. Есть все основания полагать, что значения ИЗ и ИО будут объективно отражать состояние полевой популяции.

По мере необходимости можно использовать другие технологии, позволяющие для определенных образцов дополнительно получить более точные данные по встречаемости в них инфекционных структур *P. infestans*.

**Некоторые методические особенности на подготовительном этапе.** Небольшая часть зооспорангиев может теряться при сливании остатков спирта (обычно около 2–3 мл, часто испаряется весь). Но следует вновь отметить, что этот этап оценки — чисто качественный (оценивается редко, умеренно или часто встречаются зооспорангии). Очень точные цифры принципиального значения здесь не имеют. Небольшие потери, как правило, на конечный результат не влияют. В случае сомнений сохраняется возможность оценить количество зооспорангиев в слитом спирте и добавить полученную величину к уже подсчитанной в хлорсодержащем средстве.

Известно, что в пораженной фитотрофом ткани зооспорангии образуются с разной интенсивностью.

Интенсивность образования зооспорангиев может изменяться в течение суток (ночью больше, днем — меньше). Она может изменяться в зависимости от возраста пятен, физиологического состояния питающего субстрата (листьев) и др. Наш метод все эти ритмы не отображает, для их изучения необходимы другие подходы, но позволяет приблизительно оценить максимально возможное образование зооспорангиев определенных фитотрозных пятен в данный момент вегетационного сезона. Именно этот показатель, на наш взгляд, и важен для определения краткосрочной жизнеспособности полевой популяции *P. infestans*.

Встречаемость ооспор и зооспорангиев возможно проверять также в клубнях картофеля и стеблях. Однако по результатам всех известных экспериментов образование ооспор *P. infestans* в клубнях затруднено [3]. Стеблевая форма фитотрофа встречается не очень часто. Определение количества ооспор и зооспорангиев затруднено, так как для их выявления требуется размельчение стеблей. По этим причинам использование клубней и стеблей в такой работе возможно, но нецелесообразно.

#### **Определение стратегий полевых популяций**

**Определение стратегий размножения полевых популяций *P. infestans*.** Кластерный анализ полевых популяций *P. infestans* по встречаемости в них зооспорангиев и ооспор [3] выявил 3 типа популяций: 1) популяции, размножающиеся почти исключительно бесполом путем; 2) популяции, размножающиеся преимущественно бесполом путем, с отдельными случаями образования ооспор; 3) популяции,



сочетающие бесполое размножение и образование ооспор.

Значения индексов ИЗ и ИО точно определяют репродуктивное состояние полевой популяции возбудителя фитофтороза. В этой связи на основе количественного распределения индексов можно выделить 4 основных стратегии размножения (рис. 4): С – слабая, со слабым потенциалом размножения, соответствует типам популяций (1), (2) и (3) при крайне ограниченных количествах зооспорангиев и/или ооспор; Б – бесполоая, с преимущественным бесполом размножением при помощи зооспорангиев, соответствует типам популяций (1) и (2); П – половая, с регулярным половым процессом и крайне ограниченным бесполом размножением, в исследовании [3] такой тип популяций не обнаружен; Д – двойная, с регулярными бесполом размножением и половым процессом, соответствует типу популяций (3).

Каждая из четырех стратегий включает в себя широкие диапазо-

ны ИЗ и ИО, поэтому подразделяется на несколько подстратегий (рис. 5). Для любой полевой популяции *P. infestans* на основе определенных для нее значений индексов ИЗ и ИО можно выяснить стратегию и подстратегию размножения. Например, если ИЗ = 25,0; ИО = 15,0, то данная полевая популяция имеет стратегию Д, подстратегию Д1.

Если стратегии подразумевают лишь общую характеристику полевой популяции, то подстратегии определяют ситуацию точнее, так они опираются на более узкие градации ИЗ и ИО (таблица). Например, полевая популяция с подстратегией Д1 характеризуется умеренным образованием как зооспорангиев, так и ооспор.

**Определение стратегий жизнеспособности и обоснование индекса агрессивности полевых популяций.** Как уже отмечалось выше, основным компонентом долгосрочной жизнеспособности могут быть ооспоры. Основной компонент короткосрочной жизнеспособности –

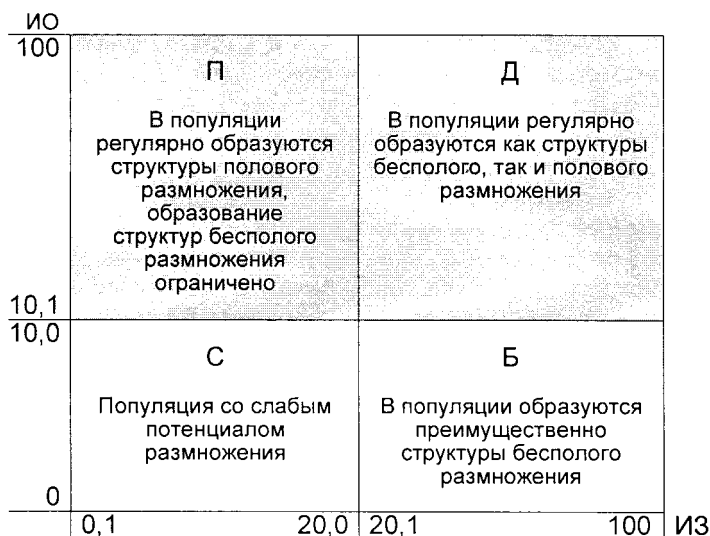


Рис. 4. Стратегии размножения полевых популяций *P. infestans*

ИО					
100		П2	Д2	Д4	Д6
25,1					
25,0		П1	Д1	Д3	Д5
10,0					
3,1					
3,0		С2	Б2	Б5	Б8
0,1					
0		С1	Б1	Б4	Б7
		0,1 20,0	20,1 40,0	40,1 60,0	60,1 100
					ИЗ

Рис. 5. Подстратегии размножения полевых популяций *P. infestans*

Градации индекса образования ооспор (ИО), индекса образования зооспорангиев (ИЗ) и индекса агрессивности (ИА) для полевых популяций *P. infestans*

Градация	Характеристика
<i>Индекс образования ооспор (ИО)</i>	
0	Ооспор не обнаружено
0,1–3,0	Ооспоры образуются очень редко
3,1–10,0	Ооспоры образуются редко
10,1–25,0	Ооспоры образуются умеренно
25,1–100	Ооспоры образуются часто и обильно
<i>Индекс образования зооспорангиев (ИЗ)</i>	
0,1–20,0	Зооспорангии образуются редко
20,1–40,0	Зооспорангии образуются умеренно
40,1–60,0	Зооспорангии образуются довольно часто
60,1–100	Зооспорангии образуются часто и обильно
<i>Индекс агрессивности (ИА)</i>	
0–10,0	Популяция слабоагрессивна
10,1–25,0	Популяция умеренно агрессивна
25,1–50,0	Популяция высоко агрессивна
50,1–100	Популяция очень высоко агрессивна

агрессивность. Поэтому определение встречаемости ооспор и параметров агрессивности для полевых популяций *P. infestans* приобретает принципиальное значение.

Встречаемость ооспор может быть охарактеризована посредством индекса ИО.

Определить такие факторы агрессивности, как инкубационный и латентный периоды в полевых условиях невозможно. Это связано с тем, что очень затруднительно отследить начало патологического процесса. Напротив, частоту инфекции, размер некрозов и интенсив-

ность спороношения определить можно. Первые 2 фактора определяются в большинстве полевых учетов. Частота инфекции соответствует распространенности болезни (**Р**), размер некрозов — индексу развития болезни (**И**). Они определяются по стандартным формулам:

$$P = n \cdot 100\% / N,$$

$$И = \sum(a_i b_i) 100\% / 5N,$$

где  $n$  — число больных растений;  $a_i b_i$  — сумма произведений числа больных растений ( $a^*$ ) на соответствующий им балл поражения ( $b_j$ ): 0 (наименьший балл) — отсутствие поражения, 1 — 0,1-10% растений поражено, 2 — 11 “30% поражено, 3 — 31-60% поражено, 4 — 61-89% поражено, 5 (наибольший балл) — 90-100% растений поражено;  $N$  — общее число больных и здоровых растений.

Интенсивность спороношения при анализе полевых результатов обычно раньше не использовали. Между тем многие эксперименты, проведенные во ВНИИ фитопатологии, МГУ и РГАУ - МСХА [4], показали, что это важнейший параметр агрессивности. Интенсивность спороношения в значительной степени может быть охарактеризована посредством индекса ИЗ.

Индекс агрессивности (**ИА**) полевой популяции *P. infestans* можно подсчитать так:

$$ИА = (P \times И \times ИЗ) / 10\ 000.$$

Деление на 10 000 обусловлено тем, что тогда большинство значений индекса ИА будет находиться в районе от 0 до 100. Это удобно для сравнительных анализов.

Подсчитанный таким образом индекс агрессивности аналогичен показателю CFI (Composite Fitness Index), определяемому для отдель-

ных изолятов в лабораторных условиях [10, 14]. Но еще раз отметим, что в отличие от CFI индекс ИА определяется для всей полевой популяции — совокупности изолятов *P. infestans* на поле или делянке.

Значения ИА и ИО точно определяют долгосрочную и краткосрочную жизнеспособность полевых популяций *P. infestans*. На основе распределения этих индексов можно выделить 4 стратегии жизнеспособности (рис. 6): **Н** — нет агрессивности и образования ооспор; популяция слабо агрессивна, образование ооспор ограничено; **А** — агрессивная; популяция агрессивна, образование ооспор ограничено; **Ж** — жизнеспособная долгосрочно, популяция слабоагрессивна, имеется регулярное образование ооспор; **О** — есть оба свойства, популяция агрессивна, имеется регулярное образование ооспор.

Каждая из 4 стратегий включает в себя широкие диапазоны ИА и ИО. Поэтому каждая из стратегий подразделяется на несколько подстратегий (рис. 7). Для любой полевой популяции *P. infestans* на основе определенных для нее значений индексов ИА и ИО можно выяснить стратегию и подстратегию жизнеспособности. Например, если ИА = 24,0; ИО = 15,0, то данная полевая популяция имеет стратегию О, подстратегию О1. Если стратегии подразумевают лишь общую характеристику полевой популяции, то подстратегии определяют ситуацию точнее, так как они опираются на более узкие градации ИА и ИО (см. таблицу). Например, полевая популяция с подстратегией О1 характеризуется умеренной агрессивностью и умеренным образованием ооспор.

ИО					
100		Ж		О	
		Популяция слабоагрессивна, имеется регулярное образование структур выживания (ооспор)		Популяция агрессивна, имеется регулярное образование структур выживания (ооспор)	
10,1					
10,0		Н		А	
		Популяция слабоагрессивна, образование структур выживания (ооспор) ограничено		Популяция агрессивна, образование структур выживания (ооспор) ограничено	
0					
	0,1		10,0	10,1	100
					ИА

Рис. 6. Стратегии жизнеспособности полевых популяций *P. infestans*

ИО									
100		Ж2	О2	О4	О6				
25,0		Ж1	О1	О3	О5				
10,0		Н3	А3	А6	А9				
3,1									
3,0		Н2	А2	А5	А8				
0,1									
0		Н1	А1	А4	А7				
	0	10,0	10,1	25,0	25,1	50,0	50,1	100	ИА

Рис. 7. Подстратегии жизнеспособности полевых популяций *P. infestans*

**Перспективы применения стратегий размножения и жизнеспособности полевых популяций *P. infestans***

1. Применение нашего метода позволит в любой момент оценить потенциал размножения и жизнеспособности полевых популяций

*P. infestans*. Таким образом, перед применением того или иного средства защиты можно оценить полевую популяцию возбудителя фитофтороза и вносить коррективы непосредственно перед применением средства защиты против этой полевой популяции. К примеру, против появления популяции со стра-

тегией Б лучше использовать обработки контактными фунгицидами (Ширланом). Против популяций со стратегией П в некоторых случаях целесообразно использовать культуuroоборот. Это связано с тем, что всегда есть риск высокого эпидемиологического значения ооспор, в большей или меньшей степени сравнимый с ситуацией в Мексике.

В случае присутствия популяций со стратегией Д целесообразно воздержаться от выращивания картофеля или томата в данном месте и проанализировать, что привело к появлению такой жесткой полевой популяции возбудителя.

2. Появляется возможность судить об эффективности защитных мероприятий. Если защитные мероприятия были эффективны, это выразится в снижении значений индексов ИА, ИЗ и ИО, стратегиях С (по размножению) и Н (по агрессивности). Если защитные мероприятия были неэффективны, то значения индексов и стратегии существенно не изменятся. Даже небольшое увеличение значений индексов ИЗ, ИА и ИО после обработок фунгицидами может сразу свидетельствовать о возникновении резистентности к ним в полевых популяциях *P. infestans*. Индекс ИА можно использовать для оценки биологической эффективности применения того или иного средства защиты.

3. Метод будет доступен для применения на станциях защиты растений. Он не требует специальных знаний, навыков и сложного лабораторного оборудования. При небольших трудозатратах можно быстро получить существенную информацию о фитосанитарном состоянии по отношению к фитофторозу на местах. Полученная информация будет чрезвычайно ценной при проведении научно обоснованной и адресной консультационной работы для производителей картофеля любого уровня.

4. Применение метода позволит оценивать возможные потери урожая от фитофтороза, так как они в значительной степени определяются жизнеспособностью полевых популяций возбудителя фитофтороза. Так, популяции с подстратегиями Н1, Н2, Н3, А1, А2, А3 вызывают лишь ограниченное поражение ботвы. При этом значительное поражение клубней может быть затруднено из-за низкой жизнеспособности патогена. Применение фунгицидов против таких полевых популяций нецелесообразно. Популяции с подстратегиями А4, А5, А6 могут привести к ситуации довольно значительного поражения ботвы, но очень вероятно, что это приведет лишь к незначительному поражению клубней. В этой связи применение фунгицидов может не дать экономический эффект, так как затраты на фунгициды превысят стоимость прибавки урожая из-за предотвращения фитофтороза. Наконец, агрессивные популяции с подстратегиями А7, А8, А9, очень вероятно, вызовут значительное поражение ботвы вплоть до ее полного уничтожения и значительное поражение клубней. Применение фунгицидов, направленное на предотвращение появления таких популяций *P. infestans*, будет экономически оправданно.

Потери урожая картофеля будут зависеть и от других факторов. Среди них следует указать наличие других болезней и вредителей, почвенные и климатические условия. Эти факторы также должны учитываться, что потребует дополнительных исследований и развития нашего метода.

5. Использование стратегий размножения и жизнеспособности уместно сочетать с традиционными популяционными исследованиями *P. infestans*. Будут получены существенные дополнительные результаты, позволяющие лучше понять тради-

ционные популяционные маркеры (типы спаривания, устойчивость к фунгицидам, ДНК- и изоферментные маркеры) и понять, какой вклад вносят те или иные генотипы в патогенность реальных полевых популяций.

#### Заключение

Предлагаемый нами лабораторно-полевой метод определения стратегий размножения и жизнеспособности полевых популяций *P. infestans* довольно несложен для применения и позволяет быстро получить емкие результаты. Он не требует больших затрат.

Метод уже нашел свое применение в многолетних работах, проводимых по фитофторозу картофеля и томата в лаборатории (станции) защиты растений в РГАУ - МСХА. Он может быть применен и для других болезней листьев. Например, модификация метода была применена при оценке мучнистой росы розы в теплицах при федеральной республиканской станции защиты растений (г. Раменское). Кафедра фитопатологии РГАУ - МСХА готова оказывать методическую помощь при использовании метода на практике.

В будущем мы не исключаем дальнейшего совершенствования предлагаемого метода. Это позволит эффективнее использовать защитные мероприятия, продлив срок действия многих из них, а также лучше понимать биологические особенности патогенов. В результате будет решаться главная задача — повышение фитосанитарного благополучия на картофеле и томате.

Авторы благодарны В. Г. Флиеру (Голландия) за ценные советы по написанию этой работы.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дьяков Ю.Т. Жизненные стратегии фитопатогенных грибов и их эволюция. Микол. и фитопатол., 1992. Т. 26. С. 309-318. — 2. Памрикеева М.В. Образование хламидоспор у *Phytophthora infestans* (Mont.) de By. Микол. и фитопатол., 1979. Т. 13. С. 333-337. — 3. Смирнов А.Н. Ооспоры *Phytophthora infestans*. Микол. и фитопатол., 2003. Т. 37. С. 3-21. — 4. Филлинов А.В., Гуревич Б.И., Кузнецова М.А. и др. Горизонтальная устойчивость листьев картофеля к *Phytophthora infestans* и агрессивность изолятов патогена из разных географических регионов. Микол. и фитопатол., 2004. Т. 38. С. 74-88. — 5. Cohen Y., Farkash S., Reshit Z., Baider A. // Phytopathology, 1997. Vol. 87. P. 191-196. — 6. Drenth A., Janssen E. M., Govers F. // Plant pathol., 1995. Vol. 44. P. 86-94. — 7. Erwin C. E., Ribeiro O. K. *Phytophthora* diseases worldwide. APS Press, 1996. — 8. Flier W. G., Griinwald N.J., Fry W.E., Turkensteen L.J. // Mycol. Res, 2001. Vol. 105. P. 998-1006. — 9. Gallegly M. E., Galindo G. // Phytopathology, 1958. Vol. 48. P. 274-277. — 10. Kadish D., Cohen Y. // Phytopathology, 1988. Vol. 78. P. 912-915. — 11. Niederhauser J.S. // *Phytophthora*. Cambridge, 1991. P. 25-45. — 12. Peters R. D., Platt H. W., Hall R., Medina M. // Plant Dis. 1999. Vol. 83. P. 652-661. — 13. Rubin E., Baider A., Cohen Y. // Phytopathology, 2001. Vol. 91. P. 1074-1080. — 14. Tooley P.W., Sweigard J.A., Fry W.E. // Phytopathology, 1986. Vol. 76. P. 1209-1212.

Статья поступила  
23 августа 2006 г.

#### SUMMARY

Our investigation is aimed at analysis of main stages of living cycle (oospores and zoosporangia) and fitness of the oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. The long-term fitness and short-term fitness and their main components (oospores and aggressiveness, respectively) are considered and discussed. On the base of analysis of previous investigations in this field, the authors made a conclusion that the available laboratory methods do not fully elucidate the *P. infestans* aggressiveness in a proper way. The aggressiveness is to be determined for field populations of late blight agent under natural conditions. Suggested method is based on simultaneous determination of occurrence of oospores and zoosporangia in blighted potato and tomato tissues after discoloration. For estimation of occurrence of oospores and zoosporangia in the field *P. infestans* populations indices IO (for oospores) and IZ (for zoosporangia) were elaborated. Index IZ as well as spread and intensiveness of development of disease (from the data of usual field estimation of late blight) were used for counting of Index of Aggressiveness — IA. Distribution of IZ and IO values allows to determine reproductive strategies and sub-strategies, distribution of IA and IO — fitness strategies and sub-strategies of field *P. infestans* populations.

Our method should facilitate better understanding of biologic properties of the pathogen, as well as estimation of efficiency of protective measures. This may contribute to a longer application period of many of them.